



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Análise do perfil transcricional e translacional dos neurônios Agrp
Autor	GABRIEL BALDISSERA
Orientador	DIOGO ONOFRE GOMES DE SOUZA

Título: Análise do perfil transcricional e translacional dos neurônios *Agrp*

Autor: Gabriel Baldissera¹ **Coautor(a):** Delva P. Leão^{1,2} e Marcelo Rigon Zimmer^{1,2}

Orientador: Marcelo O. Dietrich² e Diogo Onofre Gomes de Souza¹

Instituição: Universidade Federal do Rio Grande do Sul¹, Yale University²

Os neurônios *Agouti-Related Protein* (AgRP), localizados no núcleo arqueado do hipotálamo, são importantes reguladores da ingestão alimentar e do controle do balanço energético. Estudos em roedores adultos demonstraram que animais em jejum possuem níveis elevados de *Agrp*. Embora o mecanismo de ação dos AgRP seja conhecido, o perfil transcricional desses neurônios frente a mudanças metabólicas não é bem entendido. Uma das formas de avaliar os genes envolvidos neste processo é por meio do método de *Single-cell RNA-Seq* (scRNA-Seq), que permite isolar e sequenciar os transcritos exclusivos de uma única célula (transcriptoma). Sabe-se, porém, que o conjunto de transcritos de uma célula está sujeito à regulação pós-transcricional e que apenas um subconjunto destes transcritos é traduzido. Os transcritos associados à ribossomos ativos, ou seja, engajados no processo de tradução, podem ser isolados por meio da técnica *Ribo-Tag* e identificados com *RNA-Seq* (translatoma). Assim, o objetivo deste trabalho é analisar e comparar o transcriptoma e o translatoma dos neurônios *Agrp*.

O transcriptoma dos neurônios *Agrp* foi obtido de dados públicos de scRNA-Seq (*Gene Expression Omnibus*: GSE93374 e GSE87544). Estes dois estudos identificaram três *clusters* distintos de AgRP (C1, C2 e C3). A similaridade de composição dos *clusters* foi determinada através da comparação entre genes diferencialmente expressos (GDE) (*False Discovery Rate* (FDR) < 0.05 e *Log Fold Change* (LFC) < -1 ou LFC > 1). O RNA mensageiro (mRNA) associado ao ribossomo dos neurônios AgRP foi obtido pela técnica de *Ribo-Tag* (*Dietrich Lab – Yale University*) a partir de camundongos submetidos à dieta *ad libitum* (n = 4) e à 16 horas de jejum (n = 4). Estes mRNAs foram sequenciados (*single-end*, 75 bp, Illumina HiSeq 2500) e processados com os *softwares* *FastQC* (v.0.11.7), *STAR* (v.2.5.4) e *HTSeq* (v.0.9.1) utilizando o genoma mm10 como referência. O *software* *DESeq2* (v.1.18.1) foi utilizado para determinar a expressão diferencial entre as duas condições. A análise de enriquecimento funcional foi realizada com o *software* *Enrichr*.

Nos dados de transcriptoma, observou-se que o *cluster* G1 (97 genes: 74 downregulated e 23 upregulated) possui 84 genes exclusivos e 13 compartilhados com o *cluster* G2 (44 genes: 20 downregulated e 24 upregulated), que possui 31 exclusivos. O *cluster* G3 com um total de 77 genes (9 downregulated e 68 upregulated) não compartilhou genes com G1 e G2, evidenciando uma diferença na composição transcricional entre os *clusters*. A análise de enriquecimento funcional associou os genes exclusivos de G1 com a regulação da via *Wnt* e formação de projeções neuronais, já os genes exclusivos de G2 foram associados com a via da leptina e transporte retrógrado de vesículas e os genes exclusivos de G3 com regulação da mitofagia e da expressão gênica. Os dados de translatoma foram processados com alta qualidade (*phred score* > 30, *reads* unicamente mapeados e contados 75% – 85%). A lista de GDE possui 350 genes (FDR < 0.05). O gene *Agrp* se encontra significativamente expresso (FDR=0.009, LFC=0.43). A análise de enriquecimento funcional do translatoma associou os genes superexpressos (93 com LFC>1) à regulação positiva da transcrição e os genes subexpressos (35 com LFC< -1) à organização da cromatina na transcrição. Foi observada uma diferença na composição dos GDE entre transcriptoma e translatoma. O *cluster* G1 compartilha 16/84 genes com o translatoma, G2 compartilha 9/31 e G3 somente 3/77. Estes dados sugerem que apenas uma parcela dos transcritos é traduzida. Diante dos resultados encontrados, a próxima etapa deste projeto consiste em realizar análises de rede para investigar possíveis funções biológicas destes transcritos.